MLF Manual 1 versión 1.5

Vinmetrica SC-50 MLF Analizador ™
Manual de usuario

El analizador de la Vinmetrica SC-50 MLF (fermentación maloláctica)* es un dispositivo simple y robusto que proporciona alta exactitud en la determinación de ácido málico niveles de concentración en el vino, un parámetro esencial para controlar en el esfuerzo para hacer vinos de alta calidad.

*US patente pendiente

Nota: Consulte la página FAQ de Vinmetrica para la versión más actualizada de este manual con procedimientos actualizados y las mejores prácticas para el funcionamiento de tu SC-50.
http://www.vinmetrica.com/FAQ

Tabla de contenido:

Materiales Proporcionados en el Kit..... 2
Cosas que se ocuparan..... 2
¿Por qué hacer la prueba de acido Málico?..... 3
Teoría de operación.....3
Arreglo…..... 4
Configurar el analizador MLF por primera vez..... ..4
Procedimientos..... 4
Medición del acido málico..... 4
Confirmando la validez de sus resultados…… 7
Interpretación de datos…….……..8
Terminando …… ……..….9
Datos del representante……….....9
Riesgos, responsabilidades y garantías.....10
Apéndice A – resolución de problemas y preguntas frecuentes…….……...11

Materiales suministrados en el kit:

1. Unidad de analizador MLF Vinmetrica
2. Conjunto reactivo mallico:

   Impulsador del jugo ™ (número de parte: SC-50-4)
   Mantener en refrigerador ***
   Ácido málico (1M) (número de pieza: SC-50-5)
   Mantener en el congelador ***
3. 4 mL frascos de reacción con el agente de Biopressure (biopresion) (5)

   Mantener en el congelador ***
4. 1 'check' (prueba) frasco
5. Pipeta serológica 10 ml
6. Tubo cónico 15 ml
7. Pipeta de bulbo plástico (2)
8. Vaso de precipitado de polipropileno 100 mL

Figura 1. El SC-50 MLF analizador con probeta de reacción y frasco inserción montaje

Cosas que necesitará:

1. Vinmetrica SC-100, - 100A o SC-300.
2. Una batería de 9 voltios.
3. Agua destilada agua, que normalmente se puede encontrar en su tienda local de comestibles. Es útil tener una botella de lavado para enjuagar. Botella de enjuague de Vinmetrica disponible (parte número SC-100-17)
4. Horno microondas, placa caliente o estufa (para hervir muestras de vino)
5. (opcional) los frascos de reacción adicional con agente Biopressure para correr más de 5 muestras, según lo dispuesto en el kit. Viene en sets de 5 (SC-50-3-5), 16 (SC-50-3-16) o 32 (SC-50-3-32).

¿Por qué la prueba de ácido málico?

En la vinificación, la fermentación maloláctica (FML) convierte el ácido málico en ácido láctico, con el CO_2 siendo el subproducto de la reacción. MLF, que normalmente lleva a cabo en la mayoría de los vinos tintos y en algunas variedades blancas, desempeña un papel importante en la sensación del vino terminado y del gusto. MLF reduce la acidez titulable, el pH aumenta y produce sabores a menudo caracterizados como "suave" o "mantecoso".
El Sulfito, como libre SO_2, inhibe las bacterias que realizan MLF. Por lo tanto los niveles de SO_2 libre deben mantenerse bajos durante la FML, llevando los riesgos que el vino es dejado sin protección contra la oxidación y la contaminación microbiana. Tan pronto como acabe MLF, entonces, el SO2 debería elevarse a niveles adecuados para la protección del vino. Por lo tanto es importante saber cuándo MLF se realiza, y la mejor manera de hacerlo es medir los niveles de ácido málico en el vino.

Teoría de funcionamiento:

El analizador de MLF SC-50, con el SC-300, -100, o - 100A, puede utilizarse para determinar la concentración de ácido málico en el vino. Se basa en la reacción bioquímica de MLF causada por las enzimas que se encuentran en ciertas bacterias, incluyendo cepas de lactobacilli y oenococcus y en el componente del agente de Biopressure del kit. Estas bacterias viven en una variedad de nutrientes, pero su producción de CO_2 resulta casi en su totalidad de la transformación enzimática del ácido málico en ácido láctico:

Ácido málico Ácido láctico

$HOOC – CH_2\text{-}CH\ (OH)\text{-}COOH \rightarrow CH_3\text{-}CH\ (OH)\text{-}COOH + CO_2$

El CO_2crea presión, la cual es convertida por el analizador de MLF en una señal para el SC-300 (SC-100 o - 100A). La señal de presión de CO_2 es directamente proporcional a la cantidad de ácido málico en la muestra. El dispositivo está configurado para que cuando los niveles de ácido málico superen 0.1 g/L1 (sugiriendo MLF es incompleto), el usuario es alertado de este estado por indicadores audibles y visibles. El nivel de ácido málico puede calcularse de la lectura digital de un calibrador de ácido málico suministrado con el kit. Límite de detección es inferior a 0.04 g/L.

1 en el modelo SC-100 original, el dispositivo será señal a un nivel de ácido málico de cerca de 0.5 g/L. Sin embargo, la sensibilidad y exactitud de ácido málico valores inferiores a esto son comparables a los determinados con el SC-100A y SC-300.

Configuración

Puesta en funcionamiento del analizador de MLF por primera vez:

1. El analizador de MLF funciona con una pila de 9 voltios. Para insertar la batería, abra el compartimento de la batería en la parte de abajode la parte posterior de la unidad empujando suavemente la tapa.

2. Detección de batería baja: Si la batería está buena, el LED de encendido permanecerá iluminado cuando se pulsa el interruptor de ON. Cuando el nivel de la batería es demasiado bajo, el LED en el interruptor de encendido parpadeará en brevemente y luego se apagará. Reemplace la batería.

3. Fije el analizador MLF al dispositivo deseado Vinmetrica (SC-300, -100, o - 100A) mediante el conector BNC que sobresalen de la parte superior. Asegúrese de fijar el conector del electrodo al conector BNC para garantizar el correcto funcionamiento. Vea las figuras 2-4.

Figura 2. Instale el cable del SC-50 al conector BNC en el SC-300 (o 100)
Figura 3. Asegúrese de que el enchufe del cable se atornilla en el conector BNC.
Figura 4. Arreglo recomendado del equipo

4. Guarde todos los frascos de reacción (frascos de cristal) en el congelador hasta el día de uso.

Procedimientos

Medición de ácido málico por análisis de Biopressure:

Nota: este procedimiento está diseñado para funcionar a temperatura ambiente entre 66 y 73 ° F (19-23° C). Los resultados pueden diferir si las temperaturas están fuera de este rango. Para más información véase el apéndice.

1. Saque todos los frascos de reacción necesarios para el ensayo del congelador. Un frasco de reacción por muestra es necesario. Deje frascos de reacción a temperatura ambiente antes de iniciar el ensayo. Tenga en cuenta que puede ejecutar simultáneamente múltiples muestras de vino.

2. Usando la pipeta serológica de 10 mL, medir 10 mL de vino muestra y dispensar en el vaso de precipitados de 100 mL plástico u otro recipiente adecuado. (La pipeta serológica puede enjuagarse con agua desionizada para su reutilización; quitar el tapón de algodón si es necesario)

3. Coloque la muestra de vino en microondas y hervir durante 90 segundos a media potencia. Tiempo real depende de la potencia de su horno de microondas; el objetivo es obtener la muestra de vino a un hervor suave durante 60 segundos sin tener el chapoteo vino fuera del vaso. Si no está seguro acerca de la potencia de su microondas, le sugerimos que experimentar con un par de muestras de vino previamente para determinar cuáles son las mejores opciones para su horno de microondas. También puede traer vino a un hervor en una estufa durante 60 segundos.

4. Deje enfriar la muestra de vino a temperatura ambiente.

5. Una vez que la muestra se haya enfriado, vierta la muestra en un tubo cónico de 15 mL. Si la muestra ha perdido volumen debido a la evaporación, añadir DI H_2O (agua destilada) para restaurar el volumen a 10.0 mL y verter la muestra de nuevo en el vaso de precipitados de 100 mL. Si el volumen de la muestra se encuentra todavía en 10.0 mL entonces adelante y viértala enseguida en el vaso de 10mL sin añadir agua destilada.

6. Mezcle suavemente la botella de jugo de Boost. Utilizando una pipeta de bulbo de plástico, añadir 5 gotas (120 µL) del jugo de Boost en la muestra de vino hervido 10 mL. mezclar suavemente el vino.

7. Una vez que el frasco de reacción con el agente de Biopressure y la muestra de vino ambos han llegado a la temperatura, usted está listo para comenzar el ensayo.

8. Desconecte el ensamble de inserción del frasco de la unidad SC-50 desenroscando el conector de tuerca-luer en la parte inferior del instrumento. (Figura 5). El ensamble de inserción desconectado frasco se utilizará para poner a cero la presión inmediatamente después de tapar de la muestra. Nota: El conector luer-lock (tuerca-luer) debe ser reconectado firmemente a la unidad SC-50 (paso 13) antes de tomar una medida en el paso 19.

Figura 5. Desenroscar el conector Luer-Lock.

9. Usando la pipeta serológica de 10mL, transferir exactamente 3.0 mL de la muestra de vino del paso 6 en la probeta de reacción con el agente Biopressure. Inmediatamente ponga la tapa del frasco firmemente.

10. Sostenga el frasco erguido y coloque la unidad de inserción del frasco desconectado tal que la aguja perfore la membrana del frasco de reacción (ver figuras 6 y 7, pero tenga en cuenta que en este caso el SC-50 NO está conectado al frasco de ensamble de inserción). Mantener el conjunto de inserción del frasco con su aguja insertada a través de la membrana durante unos 3 segundos. Este paso equilibra la presión interna del frasco a presión ambiente, es decir, que remarca a "ceros" la presión inicial.

11. Retire el frasco del ensamble de inserción y repita los pasos 9 y 10 para cada muestra a analizar.

12. Agite todos los frascos suave pero minuciosamente durante aproximadamente 10 segundos.

13. Vuelva a conectar el conjunto del frasco de inserción en el SC-50 apretando firmemente su luer-lock apropiado volver a la SC-50.

14. Permita a la muestra a incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mientras se produce la incubación, agite suavemente el frasco en la marca de 10 minutos y 20 minutos.

15. Asegúrese de que el SC-50 este conectado como se describe en el paso 3 de la sección de **configuración. E**ncienda ambos instrumentos. Si utiliza un SC-300, seleccione el modo SO_2 y presione el botón ENTER.

16. Encienda el SC-50 pulsando el botón verde. El LED verde debe iluminarse. Si se enciende brevemente y luego apaga, reemplace la batería.

17. Inicializar el SC-50 girando la perilla negra de NIVEL hasta que no aparezcan ningún número cero en el medidor de SO_2 Vinmetrica . Se está estableciendo el valor de referencia de presión de aire ambiente. Ajuste hasta que el medidor SC-100A o SC-300 Lee 30.0 ± 1.0 (o ± 0.10 0.05 en el SC-100). Dispositivo está ahora listo para la medición. (Nota: cada vez que se enciende el dispositivo, debe ser inicializado)

18. Inmediatamente después del periodo de incubación de 30 minutos, agitar el frasco una vez más durante 10 segundos y luego proceder al paso siguiente inmediatamente. Es mejor agitar el frasco sosteniéndolo de la tapa, ya que sosteniendo el vidrio del frasco puede cambiar su temperatura, resultando en una lectura de presión menos precisa. No quite la tapa del frasco.

19. Este es el paso de la lectura de la presión de CO_2. **Nota:** Asegúrese de que todas las partes del ensamble del frasco de inserción están aseguradas firmemente antes de proceder. Coloque el frasco de reacción hacia arriba en el área de trabajo. Coloque la apertura del ensamble de inserción del frasco sobre el frasco. Suavemente Presione el ensamble sobre el frasco en cuanto se pueda y manténgalo en su lugar (es decir, para que el ensamble de la aguja protegida con forro de cubierta de goma es insertada en tabique del frasco); vea las figuras 6 y 7.

Figura 6. Coloque la apertura de la Ensamble de inserción frasco sobre el frasco
Figura 7. No con fuerza, pero firmemente presione el ensamble sobre el frasco hasta tope.

20. Anote el valor más alto que aparece en el medidor justo después de la inserción de la aguja. Este proceso debería durar no más de 5 segundos.

21. Suelte el frasco liberandolo del ensamble. Si Vd. no está realizando múltiples reacciones, continúe con el paso siguiente. Cuando realice múltiples reacciones, una vez retirado el frasco, el analizador debe estabilizar el valor de inicialización de 30 ± 1 a (o 0.10 ± 0,01 en el SC-100). Si es necesario, volver a inicializar el instrumento repitiendo paso 17.

22. Si aparece la luz roja LED y el tono es audible, FML no está completa. Si el LED verde permanece encendido, FML esta cerca o ya ha finalizado. Vea la sección de "Interpretación de datos" más abajo.

Procedimiento de Confirmación/concentración:

Puede calcular los niveles de ácido málico en el vino, o confirmar la validez de un resultado de ensayo, agregando el ácido málico estándar a una muestra de vino "recién completada".
1. Agregue ácido málico estándar según tu tipo de analizador de SO2:
a. SC100A o SC-300: después de registrar la respuesta de CO_2 en el paso 20 de arriba, abrir el frasco de reacción y, utilizando la pipeta de bulbo plástico, agregue 1 gota (30 uL) de 1 M de ácido málico a la muestra. Esto es equivalente a 1.3 g/L ácido málico en la muestra de 3mL de vino.

b. SC-100: diluir el ácido málico de 1 M triple mezclando 1 gota con 2 gotas de agua. Después de anotar la respuesta de CO_2 en el paso anterior, 20 abrir el frasco de reacción y, utilizando la pipeta de bulbo plástico, agregue 1 gota (30 uL) del ácido málico (ahora 0.33M) diluido a la muestra. Esto es equivalente a 0.44 g/L de ácido málico en la muestra de 3mL de vino. [Nota: Si tienes una micro pipeta, puede en cambio sólo agregar 10 uL del ácido málico de 1 M directamente.]

2. Inmediatamente vuelva a tapar el frasco de reacción y nivelelo con el conjunto de inserción desconectado como en el paso 10 arriba. Mezcle bien el frasco.

3. Repita los pasos 17-21 desde arriba, dejando la muestra otra vez incubando durante 30 minutos y desarrollando el paso de lectura de la presión de CO_2. Registrar los datos. [Si el instrumento se ha apagado, necesitará reinicializarse.] Para determinar lo que significan estos números y cómo utilizarlos, por favor vea el paso de la interpretación de datos más abajo.

4. para el cálculo de las concentraciones de ácido málico, también necesitará medir la respuesta en blanco:

a. Añada agua 3 mL DI (agua destilada) al frasco de pueba, tapado herméticamente.

b. Lea el frasco como se menciona en pasos 19 y 20 en la sección anterior, "Medición de ácido málico por ensayo de Biopressure". Registre este valor.

c. Si está ejecutando múltiples muestras de vino en al mismo tiempo, sólo tienes que tomar la lectura "blanco" solo leyéndolo una vez. Si el instrumento se apaga, el "blanco" tendrá que volver a hacerse.

Interpretación de datos

Señal de terminación del MLF

A. El SC-100A y SC-300: El instrumento está diseñado para dar una lectura de corriente aproximadamente 50 nA (nanoAmps) en el SC-100A y SC-300 cuando el nivel de ácido málico en el vino es de 0.1 g/L. En este nivel de la corriente, el LED rojo y el tono audible de la SO_2 medidor vienen en la manera habitual de SO_2 valoraciones. Esto indica que el ácido málico es igual o superior a 0.1 g/L y por lo tanto MLF no está completa. Si el nivel de ácido málico es inferior a 0.1 g/L, una señal de menos de 50 nA aparecerá, y permanecerá encendida la luz verde de proceder (PROCEED) y no se escuchará ningún tono. En este momento probablemente querrá determinar el nivel de ácido málico (y verificar el resultado inicial) siguiendo el procedimiento de concentración o confirmación anterior. Al final del procedimiento de confirmación la lectura debe aumentar, en promedio, entre 30 y 50 nA para el SC-100A y SC-300. Esto confirma que cuando el ácido málico está presente, el sistema responde adecuadamente. Este número puede ser variable, así que es mejor hacer los cálculos como se muestra a continuación.

B. En el SC-100 original el nivel 50 de nA ocurre en aproximadamente 0.5 gr/L cuando se usa como se indica (y se muestra un valor de aproximadamente 4.5 o superior). Al final del procedimiento de concentración o confirmación al valor indicado debe estar por encima de 2. Esto confirma que cuando el ácido málico está presente, el sistema responde adecuadamente. Este número puede ser variable, así que es mejor hacer los cálculos como se muestra a continuación.

Calcular la concentración del ácido málico. Asegurémonos de que ha reunido todos los datos necesarios para calcular la concentración de ácido málico de la muestra de vino. Usted debe tener tres números grabados:

1. resultados del ensayo Biopressure. **Llame a este valor 'B'**
2. Resultados de procedimiento concentración/ confirmación. **Llame a este valor 'C'**
3. Los resultados de la muestra "en blanco". **Este valor sería llamado 'D'**

Usted será capaz de calcular la concentración final de ácido málico en el vino muestra una vez que ha reunido los tres datos de estos números.

El nivel de ácido málico en el vino, en gramos por litro, viene dada por[2]

MA, g/L = S * (B-D)/(C-D)

Aquí, **S** es 1.3 para el SC-100A o SC-300, o 0.44 para el SC-100

Ejemplo. La primera respuesta de una muestra de vino fue de 76 en el SC-300. La segunda respuesta era 110. La respuesta en blanco fue 42. Así que B = 76, C = 110, D = 42 y S es 1.3. Entonces es la concentración de ácido málico

1.3 * (76-42)/(110-42) = 0,65 g/L

---

2 para convertir g/L en partes por millón (ppm) simplemente multiplicar tus resultados en g /L por 1000.

$$\frac{\text{Gramos}}{\text{Litro}} \times \frac{\text{1000 miligramos}}{\text{1 gramo}} = \text{mg/L or ppm}$$

Terminando:

1. Apague ambos dispositivos y separar el analizador SC-50 MLF desde el conector BNC en la parte superior de tu otro dispositivo serie SC. Si lo desea puede quitar la batería.

2. si tienes frascos reacción, coloque estos detrás en el congelador, así como el málico M 1.Vuelva a colocar el jugo de Boost ™ en el refrigerador.

3. Enjuague todas las mercancías de plástico con agua desionizada y almacenar la unidad y accesorios de plástico en un lugar seguro.

4. Vinmetrica está considerando aprobar un programa de reciclaje para todos utilizan frascos de reacción. Si usted está interesado en participar, por favor, espera a ellos hasta nuevo aviso. Gracias de antemano por su participación.

Datos del representante:

Análisis realizados en los laboratorios Vinmetrica en un SC-50 con un SC-300. Esta tabla es para fines de referencia; sus datos pueden ser diferentes. El Malbec y Sangiovese habían completado MLF; el Merlot o Syrah aún sometidos a la FML.

Datos del representante

Muestra de vino	Primera respuesta (‘B’; Biopressure)	Segunda respuesta ('C'; Adición de ácido málico en el poste)	Verificar respuesta Frasco (Ha '; en blanco)	Concentración del ácido málico (g/L)
Merlot	83,4	135	44.7	0.57
Malbec	53.5	108	44.7	0.18
Sangiovese	49,8	122	44.7	0.08
Syrah	65.7	123	44.7	0.35

Asistencia Técnica: info@vinmetrica.com tel. 760-494-0597